

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**(21)(22) Заявка: **2012124233/10**, 29.12.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
29.12.2009 US 61/290,549(43) Дата публикации заявки: **10.02.2014** Бюл. № 4(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: **30.07.2012**(86) Заявка РСТ:
US 2010/062323 (29.12.2010)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/090740 (28.07.2011)Адрес для переписки:
**190000, Санкт-Петербург, ВОХ-1125,
ПАТЕНТИКА**

(71) Заявитель(и):

КУРНА, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

**КОЛЛАРД Джозеф (US),
ХОРКОВА ШЕРМАН Ольга (US)**(54) **ЛЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ЯДЕРНЫМ РЕСПИРАТОРНЫМ ФАКТОРОМ 1 (NRF1), ПУТЕМ ИНГИБИРОВАНИЯ ПРИРОДНОГО АНТИСМЫСЛОВОГО ТРАНСКРИПТА К NRF1**

(57) Формула изобретения

1. Способ модулирования функции и/или экспрессии полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт по меньшей мере с одним антисмысловым олигонуклеотидом, составляющим в длину от 5 до 30 нуклеотидов, причем указанный по меньшей мере один олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную последовательности, обратной комплементарной полинуклеотиду, содержащему от 5 до 30 последовательных нуклеотидов в рамках от 1 до 810 нуклеотида последовательности SEQ ID NO: 2, с модулированием, таким образом, функции и/или экспрессии указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*.

2. Способ модулирования функции и/или экспрессии полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт по меньшей мере с одним антисмысловым олигонуклеотидом, составляющим в длину 5-30 нуклеотидов, причем указанный по меньшей мере один олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную последовательности, обратной комплементарной

природной антисмысловой последовательности к полинуклеотиду ядерного респираторного фактора 1 (NRF1), с модулированием, таким образом, функции и/или экспрессии указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*.

3. Способ модулирования функции и/или экспрессии полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт по меньшей мере с одним антисмысловым олигонуклеотидом, составляющим в длину 5-30 нуклеотидов, причем указанный олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную антисмысловому олигонуклеотиду к полинуклеотиду ядерного респираторного фактора 1 (NRF1); с модулированием, таким образом, функции и/или экспрессии указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*.

4. Способ модулирования функции и/или экспрессии полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*, включающий:

приведение указанных клеток или тканей в контакт по меньшей мере с одним антисмысловым олигонуклеотидом, который нацелен на участок природного антисмыслового олигонуклеотида указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1); с модулированием, таким образом, функции и/или экспрессии указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях пациента *in vivo* или *in vitro*.

5. Способ по п.4, отличающийся тем, что функцию и/или экспрессию ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) повышают *in vivo* или *in vitro* относительно контроля.

6. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один антисмысловой олигонуклеотид нацелен на природную антисмысловую последовательность полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1).

7. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один антисмысловой олигонуклеотид нацелен на последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую кодирующие и/или не-кодирующие последовательности нуклеиновых кислот полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1).

8. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один антисмысловой олигонуклеотид нацелен на перекрывающиеся и/или неперекрывающиеся последовательности полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1).

9. Способ по п.4, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один антисмысловой олигонуклеотид содержит одну или более модификаций, выбранных из следующих: по меньшей мере один модифицированный фрагмент сахара, по меньшей мере одна модифицированная межнуклеозидная связь, по меньшей мере один модифицированный нуклеотид и их комбинации.

10. Способ по п.9, отличающийся тем, что указанные одна или более модификаций включают по меньшей мере один модифицированный фрагмент сахара, выбранный из следующих: фрагмент 2'-О-метоксиэтил модифицированного сахара, фрагмент 2'-метокси модифицированного сахара, фрагмент 2'-О-алкил модифицированного сахара, фрагмент бициклического сахара и их комбинации.

11. Способ по п.9, отличающийся тем, что указанные одна или более модификаций включают по меньшей мере одну модифицированную межнуклеозидную связь, выбранную из: фосфотиоата, 2'-О-метоксиэтила (МОЭ), 2'-фтора, алкилфосфоната, фосфородитиоата, алкилфосфонотиоата, фосфорамидата, карбамата, карбоната, фосфата триэфира, ацетамидата, карбоксиметилового эфира и их комбинаций.

12. Способ по п.9, отличающийся тем, что указанные одна или более модификаций включают по меньшей мере один модифицированный нуклеотид, выбранный из: пептидной нуклеиновой кислоты (ПНК), закрытой нуклеиновой кислоты (ЗНК), арабино-нуклеиновой кислоты (ФАНК), их аналога, производного и комбинаций.

13. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну олигонуклеотидную последовательность, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 3-5.

14. Способ модулирования функции и/или экспрессии гена ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях млекопитающих *in vivo* или *in vitro*, включающий: приведение указанных клеток или тканей в контакт по меньшей мере с одним олигонуклеотидом малой интерферирующей РНК (миРНК), составляющим в длину 5-30 нуклеотидов, причем указанный по меньшей мере один миРНК олигонуклеотид специфичен для антисмыслового полинуклеотида полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1), причем указанный по меньшей мере один олигонуклеотид миРНК имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную комплементарной последовательности, состоящей из по меньшей мере приблизительно пяти последовательных нуклеиновых кислот антисмысловой и/или смысловой молекулы нуклеиновой кислоты указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1); и модулирование функции и/или экспрессии ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях млекопитающих *in vivo* или *in vitro*.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную последовательности, состоящей из по меньшей мере приблизительно пяти последовательных нуклеиновых кислот, комплементарной антисмысловой и/или смысловой молекуле нуклеиновой кислоты указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1).

16. Способ модулирования функции и/или экспрессии ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях млекопитающих *in vivo* или *in vitro*, включающий: приведение указанных клеток или тканей в контакт по меньшей мере с одним антисмысловым олигонуклеотидом, составляющим в длину приблизительно 5-30 нуклеотидов, специфичным для некодирующих и/или кодирующих последовательностей смысловой и/или природной антисмысловой цепи полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1), причем указанный по меньшей мере один антисмысловый олигонуклеотид имеет последовательность, по меньшей мере на 50% идентичную по меньшей мере одной последовательности нуклеиновой кислоты из представленных в последовательностях SEQ ID NOS: 1 и 2; и модулирование функции и/или экспрессии указанного ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) в клетках или тканях млекопитающих *in vivo* или *in vitro*.

17. Синтетический модифицированный олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну модификацию, причем указанная по меньшей мере одна модификация выбрана из: по меньшей мере одного модифицированного фрагмента сахара; по меньшей мере одной модифицированной межнуклеотидной связи; по меньшей мере одного модифицированного нуклеотида; и их комбинаций; причем указанный олигонуклеотид представляет собой антисмысловое соединение, которое гибридизуется с геном ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) и модулирует его функцию и/или экспрессию *in vivo* или *in vitro* по сравнению с контролем.

18. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанная по меньшей мере одна модификация включает межнуклеотидную связь, выбранную из группы, состоящей из: фосфотиоата, алкилфосфоната, фосфородитиоата, алкилфосфонотиоата, фосфорамидата, карбамата, карбоната, фосфата триэфира, ацетамидата, карбоксиметилового эфира и их комбинаций.

19. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную межнуклеотидную связь.

20. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит остов из фосфотиоатных межнуклеотидных связей.

21. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид, причем указанный модифицированный нуклеотид выбран из: пептидной нуклеиновой кислоты, закрытой нуклеиновой кислоты (ЗНК), их аналога, производного и комбинации.

22. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит множество модификаций, причем указанные модификации включают модифицированные нуклеотиды, выбранные из: фосфотиоата, алкилфосфоната, фосфородитиоата, алкилфосфонотиоата, фосфорамидата, карбамата, карбоната, фосфата триэфира, ацетамидата, карбоксиметилового эфира и их комбинации.

23. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит множество модификаций, причем указанные модификации включают модифицированные нуклеотиды, выбранные из: пептидных нуклеиновых кислот, закрытых нуклеиновых кислот (ЗНК), их аналогов, производных и комбинаций.

24. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный фрагмент сахара, выбранный из: фрагмента 2'-О-метоксиэтил-модифицированного сахара, фрагмента 2'-метокси-модифицированного сахара, фрагмента 2'-О-алкил-модифицированного сахара, фрагмента бициклического сахара и их комбинации.

25. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит множество модификаций, причем указанные модификации включают модифицированные фрагменты сахара, выбранные из: фрагмента 2'-О-метоксиэтил модифицированного сахара, фрагмента 2'-метокси модифицированного сахара, фрагмента 2'-О-алкил модифицированного сахара, фрагмента бициклического сахара и их комбинации.

26. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что длина указанного олигонуклеотида составляет по меньшей мере приблизительно 5-30 нуклеотидов и указанный олигонуклеотид гибридизуется с антисмысловой и/или смысловой цепью полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1), причем указанный олигонуклеотид имеет последовательность по меньшей мере приблизительно на 20% идентичную комплементарной последовательности, состоящей из по меньшей мере приблизительно пяти последовательных нуклеиновых кислот антисмысловых и/или смысловых кодирующих и/или не кодирующих последовательностей нуклеиновых кислот указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1).

27. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид имеет последовательность по меньшей мере приблизительно на 80% идентичную комплементарной последовательности из по меньшей мере приблизительно пяти последовательных нуклеиновых кислот антисмысловой и/или смысловой кодирующей и/или не кодирующей последовательности нуклеиновой кислоты указанного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1).

28. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид гибридизуется по меньшей мере с одним полинуклеотидом ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) и модулирует его экспрессию и/или функцию *in vivo* или *in vitro* по сравнению с контролем.

29. Олигонуклеотид по п.17, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид содержит последовательности, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 3-5.

30. Композиция, содержащая один или более олигонуклеотид, специфичный для одного или более полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1), причем указанные полинуклеотиды включают антисмысловые последовательности, комплементарные последовательности, аллели, гомологи, изоформы, варианты, производные, мутанты, фрагменты или их комбинации.

31. Композиция по п.30, отличающаяся тем, что указанные олигонуклеотиды имеют последовательности, по меньшей мере приблизительно на 40% идентичные любым нуклеотидным последовательностям, представленным в последовательностях SEQ ID NO: 3-5.

32. Композиция по п.30, отличающаяся тем, что указанные олигонуклеотиды содержат нуклеотидные последовательности, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 3-5.

33. Композиция по п.32, отличающаяся тем, что олигонуклеотиды, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 3-5, содержат одну или более модификацию или замену.

34. Композиция по п.33, отличающаяся тем, что указанная одна или более модификация выбрана из фосфотиоата, метилфосфоната, пептидной нуклеиновой кислоты, молекул закрытой нуклеиновой кислоты (ЗНК) и их комбинаций.

35. Способ предотвращения или лечения заболевания, связанного по меньшей мере с одним полинуклеотидом ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) и/или по меньшей мере одним кодируемым указанным полинуклеотидом продуктом, включающий:

введение пациенту терапевтически эффективной дозы по меньшей мере одного антисмыслового олигонуклеотида, который связывается с природной антисмысловой последовательностью указанного по меньшей мере одного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) и модулирует экспрессию указанного по меньшей мере одного полинуклеотида ядерного респираторного фактора 1 (NRF1); обеспечивая, таким образом, предотвращение или лечение заболевания, связанного с указанным по меньшей мере одним полинуклеотидом ядерного респираторного фактора 1 (NRF1) и/или с по меньшей мере одним кодируемым указанным полинуклеотидом продуктом.

36. Способ по п.35, отличающийся тем, что заболевание, связанное с указанным по меньшей мере одним полинуклеотидом ядерного респираторного фактора 1 (NRF1), выбрано из: заболевания или расстройства, связанного с аномальной функцией и/или экспрессией NRF1, неврологического заболевания или расстройства (например, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, амиотрофического латерального склероза и т.п.), заболевания или расстройства, связанного с инсулинорезистентностью, диабета, опухоли печени, немелкоклеточного бронхолегочного рака, иммунологического заболевания или расстройства, оксидативного стресса, заболевания или расстройства, связанного с нарушением митохондриальной функции, заболевания или расстройства, связанного с нарушением митохондриального биогенеза, заболевания или расстройства, связанного с митохондриальным заболеванием в результате нарушений ядерного контроля митохондриальной функции, возрастными изменениями и старением.

37. Способ идентификации и выбора по меньшей мере одного олигонуклеотида для введения in vivo, включающий: выбор целевого полинуклеотида, связанного с болезненным состоянием; идентификацию по меньшей мере одного олигонуклеотида, содержащего по меньшей мере пять последовательных нуклеотидов, комплементарных выбранному целевому полинуклеотиду или антисмысловому полинуклеотиду к выбранному целевому полинуклеотиду; определение температуры плавления гибрида антисмыслового олигонуклеотида и целевого полинуклеотида или антисмыслового полинуклеотида к выбранному целевому полинуклеотиду при гибридизации в жестких условиях; и выбор по меньшей мере одного олигонуклеотида для введения in vivo на

основании полученной информации.

RU 2012124233 A

RU 2012124233 A